

ゲストロン群は13.5%、86.8%陰性コントロール群は81.0%、19.1%であった。

活性型Caspase-3の測定は関連物質による伝達過程を観察し、TUNEL法はDNA断片化過程を観察したものである。これにより、アポトーシスの2つの過程による同定をしたことになる。

(4) 電子顕微鏡像ではクロマチンの凝集、アポトーシス小体の形成、バディングの発生といった典型的なアポトーシスによる細胞の変化といわれる現象を認めた。

「考察」

in vitroにおいてHSG細胞のAnti-Fasによるアポトーシスが誘導されたことから唾液腺の組織破壊にFasが関与しておりさらにFasを介したHSG細胞のアポトーシス誘導に対し、

卵巣ホルモンは耳下腺のアポトーシス調節因子であり、エストロゲンによって耳下腺でアポトーシスを抑制し、閉経以後増加する口内乾燥を軽減する可能性を説明した。

また、プロゲステロンは唾液腺腺癌にたいし抗腫瘍効果を持つことが考えられた。

(1) (2) より卵巣ホルモンにより、アポトーシスが誘導されていることが推察される。

加齢による増加傾向は認められなかった。

また、HSG細胞におけるAnti-Fasによるアポトーシスの至適誘導時間は48時間前後であることが分かった。

この業績は臨床の口内乾燥症の治療につなげるもので大きな価値がある。

氏 名	野 崎 祐 史 の ぎま ゆう し
学位の種類	博 士 (医学)
学位記番号	医 第 8 4 8 号
学位授与の日付	平成 17 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	The beneficial effects of treatment with ATRA plus corticosteroid on autoimmune nephritis in NZB/WF1 mice (ループス腎炎発症モデルマウス (NZB/WF1) に対する副腎皮質ステロイドとレチノイン酸の併用効果)
論文審査委員 (主 査)	教授 金 丸 昭 久
(副主査)	教授 宗 像 浩
(副主査)	教授 竹 村 司

## 論文内容の要旨

### 【目的】

副腎皮質ステロイド剤は抗炎症作用などの薬理的作用を有し、全身性エリテマトーデスをはじめとする自己免疫疾患の治療に広く用いられてきた。しかし、感染症、糖尿病、骨粗しょう症などの重篤な副作用を誘起することから、より安全な治療薬の開発が急務と考えられる。レチノイン酸はビタミン A 誘導体の総称で抗腫瘍効果や免疫抑制効果をもつことが知られており、臨床的に急性骨髄性白血病、乾癬などにも用いられている。以前、我々はループス腎炎発症モデルマウスである NZB/WF1 マウスにレチノイン酸を投与し、生存率及び蛋白尿の改善を認め報告した。本研究では NZB/WF1 マウスを用いて副腎皮質ステロイド剤にレチノイン酸を併用してその効果を観察し、併せて薬理作用について検討した。

### 【方法】

NZB/WF1 マウスに週 3 回 Prednisolone (PSL) 0.6 mg もしくは 0.3 mg、あるいは All-trans-retinoic acid (ATRA) 0.1 mg を単独または併用で腹腔内投与し、生存率、蛋白尿を観察した。各種サイトカイン及び抗 DNA 抗体価は enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) で、各サイトカイン及び inducible nitric oxide synthetase (iNOS) 及び monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) の mRNA の発現は reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) で測定し、腎組織の観察は PAS 染色にて行った。

### 【結果】

副腎皮質ステロイド剤とレチノイン酸の併用によりそれぞれの単独投与と比較して生存率及び蛋白尿の改善を認め interleukin-2 (IL)-2, interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), IL-12, IL-4, iNOS 及び MCP-1 発現、抗 DNA 抗体ならびに腎糸球体メサンギウム領域における細胞浸潤、尿細管萎縮、および傍血管細胞浸潤がいずれも抑制された。一方、レチノイン酸の明らかな副作用は認めなかった。

### 【考察】

レチノイン酸による Th1 サイトカインを中心とした免疫抑制効果を認め、副腎皮質ステロイド剤とは異なるレチノイン酸の作用機序が知られていることから、両者の併用は自己免疫疾患の新しい治療法となる可能性が示唆された。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	2005 年 1 月 日 公表予定	出版物名 Clin Exp Immunol
	公 表 内 容	
	全 文	2005 年 1 月 日 発行予定

## 論文審査結果の要旨

### 【目的】

副腎皮質ステロイドは抗炎症作用をもつことから全身性エリテマトーデスをはじめとする自己免疫疾患に広く用いられてきた薬剤である。しかし、感染症、糖尿病、骨粗しょう症などの重篤な副作用を誘起することもあるため、より安全な抗炎症作用をもつ薬剤の発見が急務であり、近年において様々な薬剤が臨床応用されつつある。以前我々はループス腎炎発症モデルマウスである NZB/WF1 マウスにレチノイン酸を腹腔内投与することで生存率及び蛋白尿の改善を報告した (Kinoshita K, Funauchi M, Kanamaru A et al. J Immunol 2003; 170: 5793-8)。今回我々は NZB/WF1 マウスを用いて副腎皮質ステロイドにレチノイン酸を併用しその併用効果について検討した。

### 【方法】

NZB/WF1 マウスに週三回 Prednisolone (PSL) 0.6 mg もしくは 0.3 mg の単独投与群、All-trans-retinoic acid (ATRA) 0.1 mg の単独投与群、PSL (0.6 mg/0.3 mg)+ ATRA の併用投与群、プラセボ群の 6 群に分けてそれぞれを腹腔内投与した。蛋白尿、生存率を解析し、サイトカイン産生能を Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)、enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) にて検討し、inducible nitric oxide synthetase (iNOS) 及び monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) の発現、抗 DNA 抗体価の測定、PAS 染色にて腎組織の病理組織学的検討を行った。

### 【結果】

副腎皮質ステロイドにレチノイン酸を併用することでそれぞれの単独投与群よりも生存率及び蛋白尿の改善、ELISA 及び RT-PCR 法にて Th1 [interleukin-2 (IL)-2, interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), IL-12]そして Th2 サイトカイン(IL-4) 産生の抑制、iNOS 及び MCP-1 の抑制、抗 DNA 抗体価の抑制、PAS 染色においてメサンギウム領域における細胞浸潤、尿細管萎縮、傍血管細胞浸潤が抑制された。

**[考察]**

近年、自己免疫疾患において病態の発症機序として Th1/Th2 サイトカインバランスの異常が報告されている。Th1 サイトカインでは IFN- $\gamma$ , IL-12 が SLE モデルマウスにて病態を悪化させることが報告されており、また、Th2 サイトカインでは IL-4 が自己抗体の過剰産生に関与することは広く知られている。今回の実験においてレチノイン酸が Th1・Th2 サイトカインが両方とも抑制したことにより、副腎皮質ステロイドを併用することで相乗効果を示し、腎炎の改善をもたらしたと考えられた。

**[結論]**

今回の実験により、レチノイン酸の広範な免疫調節機能が示され、自己免疫疾患の領域においても臨床応用の可能性が示唆された。

氏 名	しみず としお 雄
学位の種類	博 士 (医学)
学位記番号	医 第 8 4 9 号
学位授与の日付	平成 17 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Anti-Dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) polyclonal 抗体を用いた Borrmann IV 型胃癌組織内 DPD 発現と DPD 阻害抗癌剤 S-1 の抗腫瘍効果の検討
論文審査委員 (主 査)	教授 福 岡 正 博
(副主査)	教授 塩 崎 均
(副主査)	教授 工 藤 正 俊